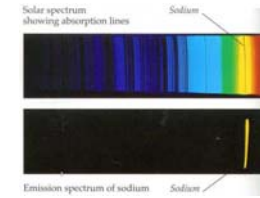


# Kern/Elektronen(spin)rezonanz-spektroskopie (Radiospektroskopie)

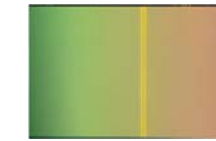


Mai 14

## I. Spektroskopische Beobachtungen



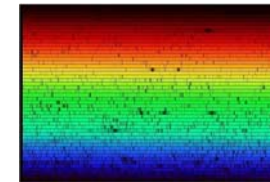
Na:  $3p \rightarrow 3s$



D H

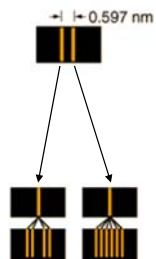


H:  $3s \rightarrow 2p$



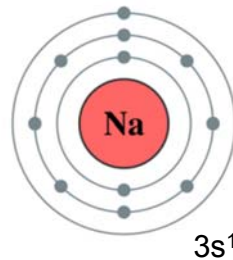
s — sharp; p — principal;  
d — diffuse; f — fundamental

Na-Spektrum:  $3p \rightarrow 3s$ ;

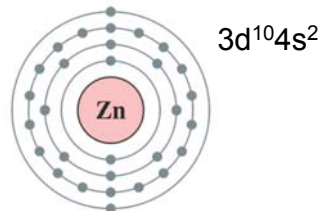


ohne Magnetfeld

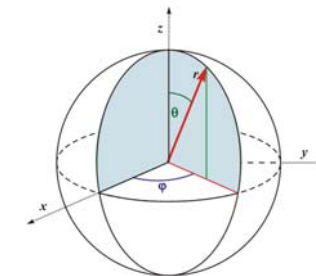
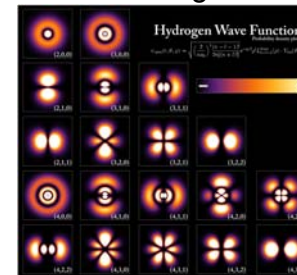
mit MF



Zn:  $4p \rightarrow 4s$



## Beschreibung der Energiezustände/Elektronenstruktur



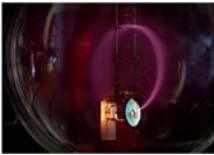
$n \leftrightarrow r$  — Hauptquantenzahl

$l \leftrightarrow \theta$  — Nebenquantenzahl;  
(beschreibt das orbitale Drehmoment)

$m \leftrightarrow \varphi$  — magnetische Quantenzahl;  
(Sie charakterisiert die Aufspaltung der Elektronenenergien  
infolge Einwirkung äußerer magnetischer Felder.)

$s \leftrightarrow$  Spinquantenzahl  
(verknüpft mit dem Eigendrehimpuls (Eigendrehmoment)  
eines Elektrons)

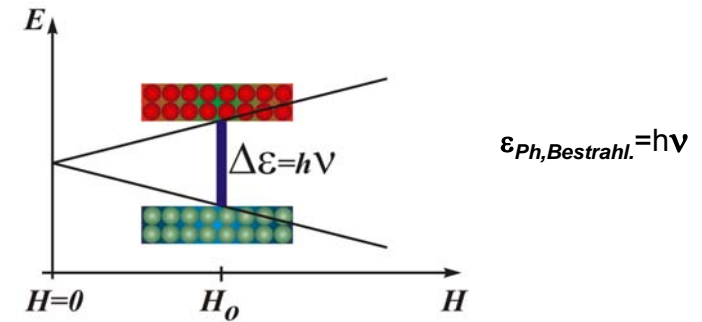
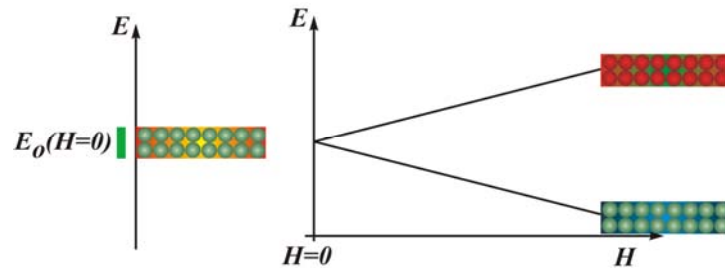
→ **Energiestruktur hängt von An/Abwesenheit  
eines Magnetfeldes!**



## II. Wirkung der magnetischen Felder auf die Energiestruktur der Elektronen

**Ohne Magnetfeld:** die Elektronenenergien hängen nur von Haupt- und Nebenquantenzahlen ab.

**Zeeman-Effekt:** in Anwesenheit von magnetischem Feld — hängt die Energie eines Elektronenzustandes von der Magnetfeldstärke ab. ➤ Zeeman-Aufspaltung



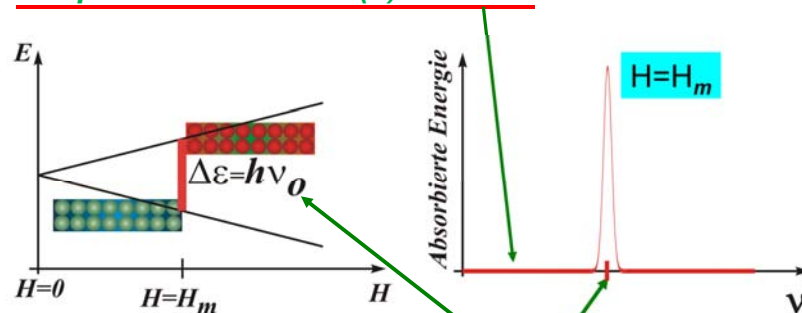
➔  $\Delta \epsilon \sim H$

Anregung der Elektronen ist mithilfe entsprechender elektromagnetischer Strahlung möglich. **Man kann die absorbierten oder nach der Anregung emittierten Energien messen.**

**Messmöglichkeiten:**

**I. Feldstärke ist stetig ( $H_m$ );**

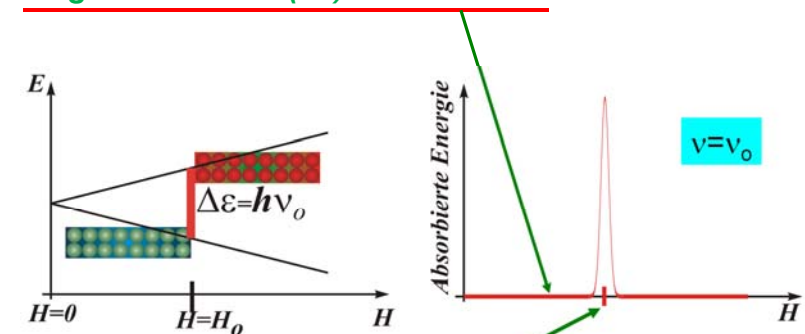
**Frequenz ist verändert ( $\nu$ )**



$\nu_0$ : die Absorption ist maximal **bei dieser Frequenz**

**II. Frequenz ist stetig ( $\nu_0$ );**

**Magnetfeldstärke ( $H$ ) wird verändert**



$H_0$ : maximale Absorption bei dieser Feldstärke



Wie groß ist die Besetzungsdifferenz von zwei Energieniveaus unter thermischem Gleichgewicht und im thermodynamisch abgeschlossenen System?



bekannt:

**Boltzmann-Verteilung**

$$\frac{N_2}{N_1} = \frac{N_{AZ}}{N_{GZ}} = e^{-\Delta\varepsilon / kT}$$

$N_{AZ}$ : Anzahl der Teilchen im angeregten Zustand;

$N_{GZ}$ : Anzahl der Teilchen im Grundzustand;

$$\frac{N_2}{N_1} = \frac{N_{AZ}}{N_{GZ}} = e^{-\Delta\varepsilon / kT} = \frac{1}{e^{\Delta\varepsilon / kT}} \quad \text{wobei } \Delta\varepsilon > 0 \quad N = N_{GZ} + N_{AZ}$$

→  $N_{AZ} / N_{GZ} < 1$ ;

→  $N_{AZ} < N_{GZ}$

Besetzung des angeregten Zstds. < Besetzung des Grundzstds.

Die Energiedifferenz ( $\Delta\varepsilon$ ) liegt im Radiowellen-Bereich;  
viel kleiner als die thermische Bewegungsenergie



## Zusammenfassung I.

- ✓ Unter Einwirkung von Magnetfeldern spalten sich die Energieniveaus von Atomen und Molekülen auf;
- ✓ Zwischen den Energieniveaus können Übergänge erzeugt werden: das System absorbiert elektromagnetische Strahlung deren Frequenz von der angewandte Feldstärke abhängig ist;
- ✓ Die Energiedifferenz zwischen Niveaus liegt im Radiowellen-Bereich (MHz-GHz);
- ✓ Besetzung kann mithilfe der Boltzmannschen Verteilung beschrieben werden.

## III. Was ist der Spin?

Physics. — "Experimental proof of the existence of Ampère's - molecular currents." By Prof. A. EINSTEIN and Dr. W. J. DE HAAS.  
(Communicated by Prof. H. A. LORENTZ),

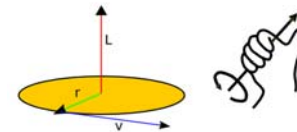
(Communicated in the meeting of April 23, 1915).

When it had been discovered by ØRSTED that magnetic actions are exerted not only by permanent magnets, but also by electric currents, there seemed to be two entirely different ways in which a magnetic field can be produced. This conception, however, could hardly be considered as satisfactory and physicists soon tried to refer the two actions to one and the same cause. AMPÈRE succeeded in doing so by his celebrated hypothesis of currents circulating around the molecules without encountering any resistance.

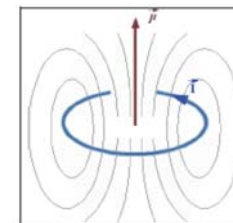
The same assumption is made in the theory of electrons in the form e.g. in which it has been developed by H. A. LORENTZ, the only difference being that, like electric currents in general, the molecular currents are now regarded as a circulation of elementary charges or electrons.

Fundamentale physikalische Begriffe:

- ✓ Drehimpuls ( $\underline{L}$ )
- ✓ magnetisches Moment ( $\underline{M}$  oder  $\underline{\mu}$ )

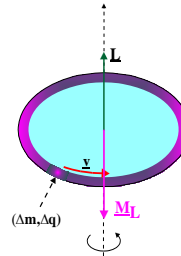
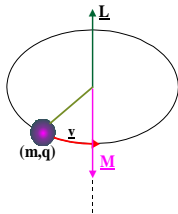
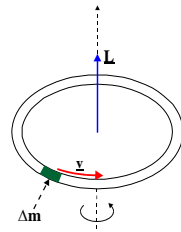
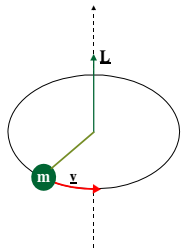


$\underline{L}$ : ist das Produkt von dem Ortsvektor  $\underline{r}$  und dem Impuls ( $\underline{p} = m \cdot \underline{v}$ ). Er steht senkrecht zu Richtungen von  $\underline{r}$  und  $\underline{p}$ .



$\underline{M}$  oder  $\underline{\mu}$

$$|\underline{\mu}| = -q_e \omega r^2 / 2 \quad \text{für Elektronen}$$



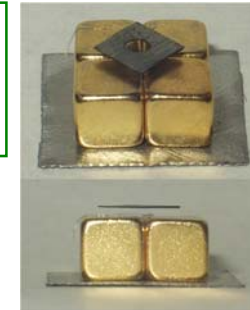
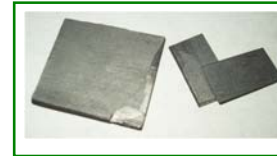
### Magnetische Eigenschaften:

#### paramagnetische Substanzen:

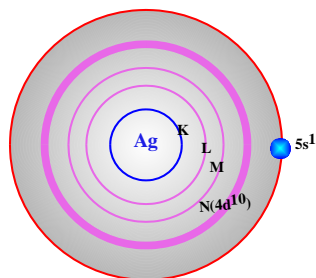
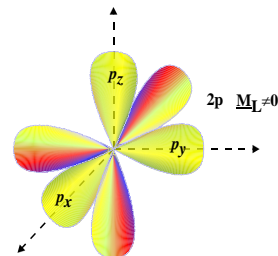
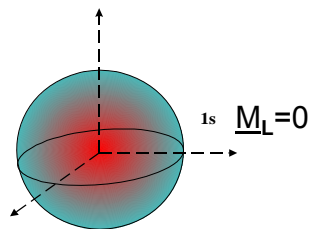
Sie verstärken "in ihren Inneren" die äußeren magnetischen Felder; zB.: Eisen.

#### diamagnetische Substanzen:

Die äußeren magnetischen Felder werden aus ihren Inneren herausgeschossen: ein entgegengesetztes Magnetfeld wird induziert; zB.: Wismut

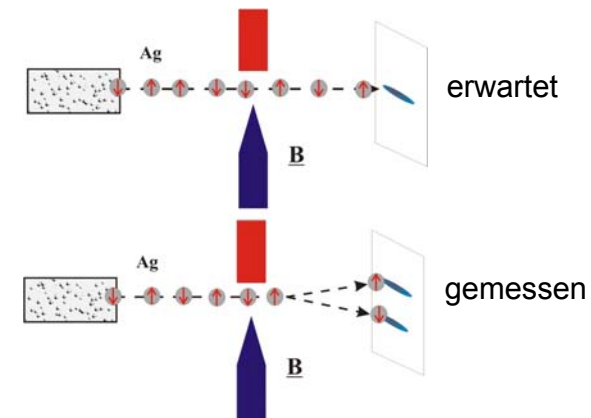


### Regeln für resultierende magnetische Momente:



**Arbeitshypothese:**  
kein magnetisches Moment

### Stern-Gerlach Versuch:

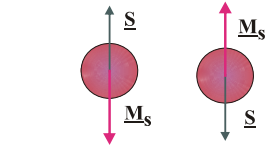


**Schlussfolgerung: SPIN; Spinzustand: 1/2, -1/2**

Die Elektronen besitzen, UNABHÄNGIG  
von Bahndrehimpuls,  
— eigenen Drehimpuls  
— eigenes magnetisches Moment

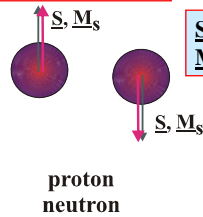
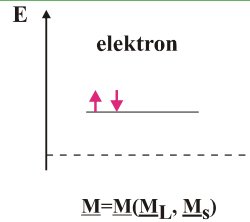
→ Spin

$\underline{S}$  — Eigendrehimpuls  
 $\underline{M}_s$  — eigenes magn. Moment



elektron

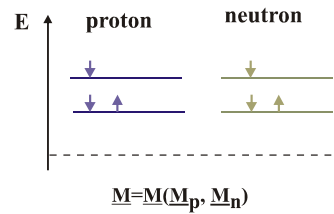
$$\Delta\varepsilon = h \cdot \nu = \mu_e \cdot g_e \cdot H$$



proton  
neutron

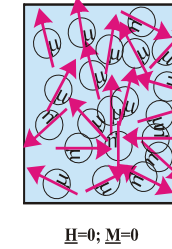
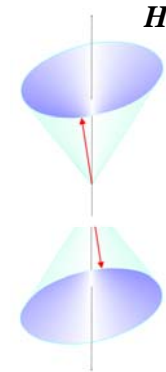
$$\Delta\varepsilon = h \cdot \nu = \mu_p \cdot g_p \cdot H$$

$$\Delta\varepsilon = h \cdot \nu = \mu_n \cdot g_n \cdot H$$

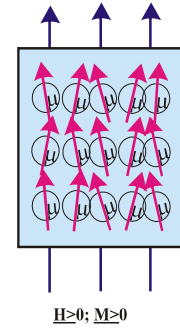


für Atomkerne:

$\mu$ : elementare magnetische Momente

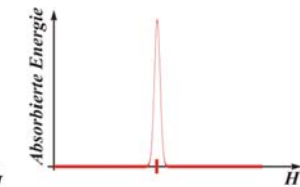
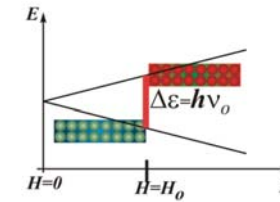


$H=0; \underline{M}=0$



$\underline{M} = \sum \mu_i$

$H \geq 0; \underline{M} \geq 0$



## IV. Magnetisches Moment der Atomkerne

Wie groß ist das elementare magnetische Moment für  
Elektronen, Protonen?

$$\mu_p = 1.410606 \cdot 10^{-26} \text{ J/T} \quad \mu_e = \frac{q_e \cdot (h/2\pi)}{2m_e} \quad \mu_p = \frac{q_p \cdot (h/2\pi)}{2m_p}$$

$$\mu_n = -0.966236 \cdot 10^{-26} \text{ J/T}$$

Auch die Neutronen besitzen Spin und **magnetisches Moment**

Frage: Drehen sich die Elektronen/Protonen/Neutronen?

alle besitzen einen  
Spin;  $S := 1/2, -1/2$

bei erlaubten Übergängen durch  
Bestrahlung mit EMW  
(Photonen)  $\Delta s = \pm 1$

Absorption/Emission von Photonen → **Drehimpulserhaltungssatz**

Dreht sich ein Photon?

→ Bei Atomkernen:

- ✓ Ähnlich dazu, was bei den Elektronen beobachtet wurde, spalten sich die Energiezustände infolge eines Magnetfeldes auf;
- ✓ Atomkerne geeigneter Eigenschaften können elektromagnetische Energie absorbieren/emittieren;
- ✓ NMR-Spektroskopie — Kernspinresonanzspektroskopie.



	<i>NMR</i>
minimale Konz.:	0,1 mmol/l
minimales Probenvolumen( $\mu$ l)	500
gesamt Teilchenzahl	$3,01 \cdot 10^{16}$
Frequenzbereich	<b>40-900 MHz</b>
magnetische Feldstärke (Tesla)	<b>~0,9 — ~20,0</b>
$\Delta\varepsilon$ (J)	<b><math>2,65 \cdot 10^{-26}</math> — <math>5,96 \cdot 10^{-25}</math></b>
$\Delta\varepsilon$ (eV)	<b><math>1,66 \cdot 10^{-7}</math> — <math>3,73 \cdot 10^{-6}</math></b>
Differenz in relativer Besetzung	$3,2 \cdot 10^{-6}$ — $7,2 \cdot 10^{-5}$
absorbierte Energiemenge (J) bei Populationsinversion	$2,55 \cdot 10^{-15}$ — $1,29 \cdot 10^{-12}$



## Zusammenfassung II.

- ✓ Einige elementare Teilchen besitzen Eigendrehimpuls und eigenes magnetisches Moment;
- ✓ Elektronen, Protonen und Neutronen sind Teilchen mit halbzahligem Spin;
- ✓ Atomkerne, die ungeradzahlige Protonen und/oder ungeradzahlige Neutronen besitzen, haben Kernspin und kernmagnetisches Moment;
- ✓ Infolge einer Aufspaltung der Energieniveaus unter Einwirkung eines äußeren Magnetfeldes kann, im Radiofrequenzbereich, Absorption oder Emission gemessen werden.

## V. NMR-Spektroskopie

### Prinzip — *Messung der Absorption*

— unter kontinuierlicher Bestrahlung ein zur absorbierten Energie proportional Signal ist gemessen;

— die *absorbierte Energie ist proportional zur Konzentration* der Kerne, die bei der gegebenen Anregungsenergie absorptionsfähig;

>> ein *NMR-Spektrum ist eine Darstellung der absorbierten Energie als die Funktion der Bestrahlungsfrequenz oder der magnetischen Feldstärke.*

— *Unterschiede treten infolge unterschiedlicher molekularer Umgebungen auf, weil entweder die Elektronenverteilungen oder die Ordnungszahlen der benachbarten Atome/Moleküle unterschiedlich sind. Dies führt zu unterschiedlichen Anregungsfrequenzen.*

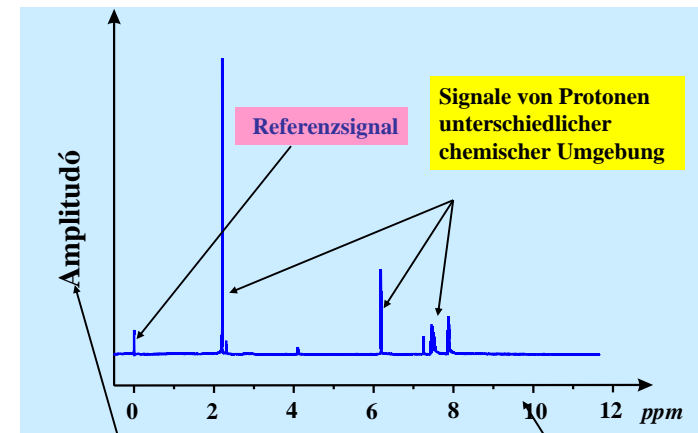
Bruker Biospin ERS300 E spectrometer



## Anwendungsgebiete der NMR-Spektroskopie

### Untersuchung

- von Molekülstruktur organischer Verbindungen: Entdeckung, Nachweis;
- der Wechselwirkungen organischen Verbindungen;
- Struktur der Makromoleküle (Proteinen, Nukleinsäuren);
- Liposome, biologische und Modellmembrane;
- Entwicklungen spezieller Messverfahren für MRT!



Amplitude ist zur Absorption=Konzentration der Protonen proportional.

chemische Verschiebung

Info.: zu welchem Kohlenstoffatom ist das gegebene Wasserstoffatom verbunden; welche W.-Atome sind die benachbarten.

chemische Verschiebung ( $\delta$ ): relative Differenz der Absorptionsfrequenzen eines gewählten Protons ( $f_s$ ) und der Referenzfrequenz ( $f_{ref}$ ) auf die Referenzfrequenz bezogen; in ppm Einheiten:

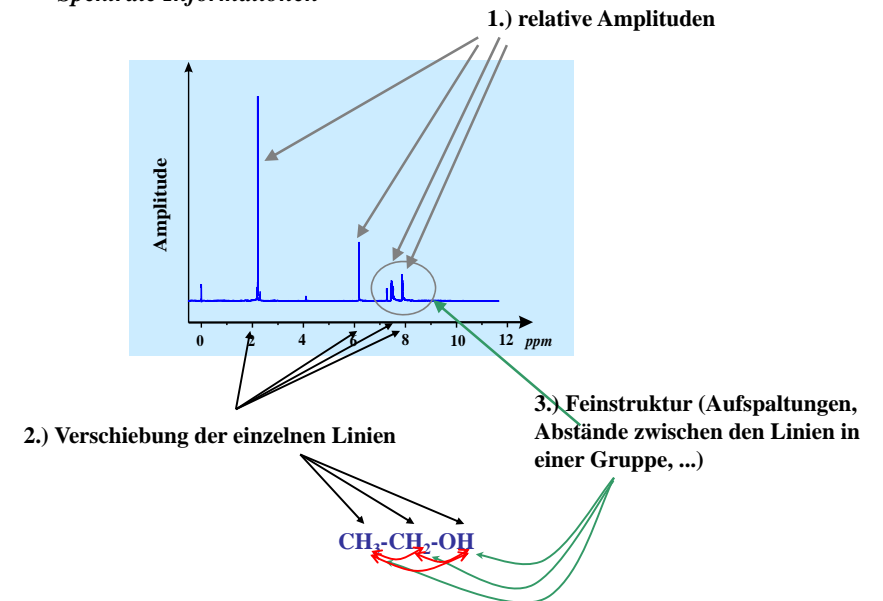
$$\delta = \frac{f_s - f_{ref}}{f_{ref}} \cdot 10^6$$

$f_{ref} = f_{Bestrahlung} = 900 \text{ MHz}$  (bei besten Geräten)

$\delta = \text{max} \sim 15 \text{ ppm}$  (im Allgemeinen 12)

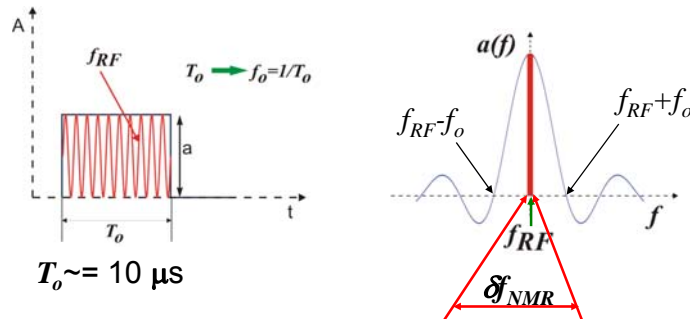
$\Delta f = 13500 \text{ Hz}$  (Vgl. mit 900 MHz!)

### Spektrale Informationen



## Grundlagen der FT-NMR Spektroskopie

Frage: wie wäre es möglich, die Messungen während kürzer Zeit durchzuführen; verbessern das Signal/Rausch-Verhältnis?

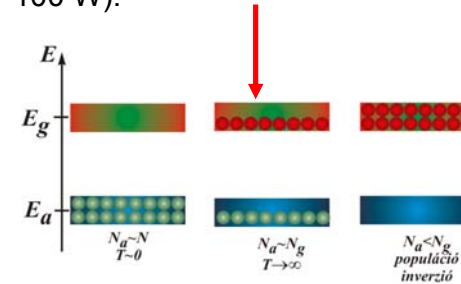


$$\frac{1}{T_o} = f_o \Rightarrow \frac{1}{10 \cdot 10^{-6}} [s^{-1} = Hz] = 10^5 [Hz]$$

$$\delta = 15 \text{ ppm}; \Delta f = 13500 \text{ Hz}$$

## Lösung:

- gleichzeitige Anregung im ganzen Frequenzbereich der Absorption;
- kurzzeitige RF-Impuls ( $\sim \mu s$ ) mit großer Leistung ( $\sim 10-100 \text{ W}$ ).



Was wird gemessen?

die Rückkehr des Kernsystems zum Grundzustand = wie entspannt sich das System aus dem angeregten Zustand

Relaxationsmöglichkeiten:

- 1.) Energieabgabe der Umgebung —  $T_1$  Relaxationszeit;
- 2.) Energieverteilung zwischen den angeregten Spins (ohne Energieabgabe, Dephasierung) —  $T_2$  Relaxationszeit;

"Energieachse" — z-Achse:  $T_1$  — Relaxation entlang der z-Achse (übereinstimmt mit der Ausrichtung der angelegten magnetischen Feldstärke)

$T_2$  — Relaxation senkrecht zur z-Achse: in x-y Ebene;

**Beide Relaxationen laufen gleichzeitig!**

**Messung der Signale in xy-Ebene mit elektrischen Spulen;**

**Nach Anregung fängt das resultierende magnetische Moment in der xy-Ebene zu präzessieren (aber  $T_1$  und  $T_2$  wirken dagegen);**

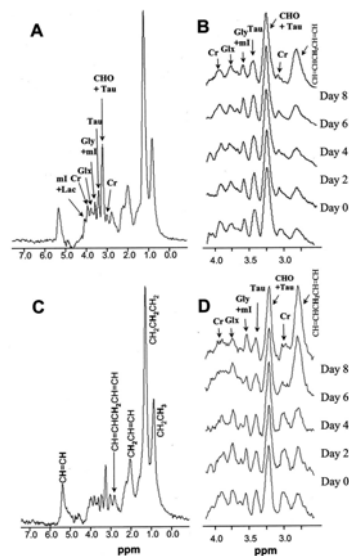
**Die Form (Breite und Amplitude) der Signale sind mit  $T_2$  verknüpft.**

Das detektierte, Rohsignal ist eine Summe von Sinus/Cosinus-Funktionen unterschiedlicher Frequenzen; Herstellung der "normalen" Spektren durch Fourier-Transformation — FT-NMR

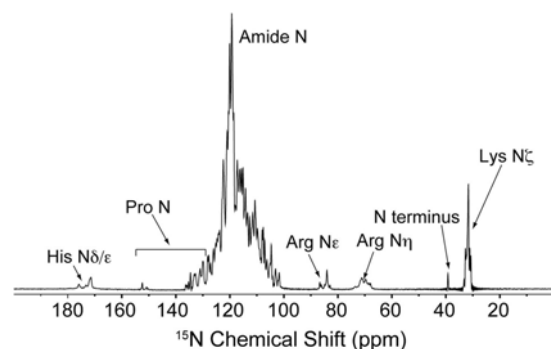
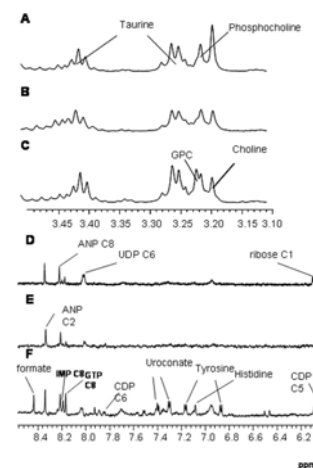


# In vivo spectra from rat brain BT4C gliomas.

*mI*, *myo*-inositol; *Lac*, lactate; *Cr*, creatine. *C*, lipid peaks are assigned according to the chemical groups giving rise to the resonance. *B* and *D*, the spectra are referenced to a fixed height of CHO peak. *Day 0*, *Day 2*, etc., refer to days 0 through 8 of GCV treatment.



# A set of 1H spectra from normal rat brain cortex and BT4C gliomas showing regions containing choline derivatives (A-C) and nucleotides (D-E).



<sup>15</sup>N CP-MAS spectrum of U-<sup>13</sup>C, <sup>15</sup>N-DsbA (4096 scans, - 10 °C, 11,111 kHz MAS, and 500 MHz <sup>1</sup>H frequency). The spectrum was zero filled and Fourier transformed without apodization (MAS:magic angle spinning)

Journal of Molecular Biology (2010): Assignment Strategies for Large Proteins by Magic-Angle Spinning NMR: The 21-kDa

Disulfide-Bond-Forming Enzyme DsbA